RÉSULTATS

DES

CAMPAGNES SCIENTIFIQUES

DU

PRINCE DE MONACO

Ce Fascicule a été publié et le dépôt fait au Gouvernement à Monaco
le 1er septembre 1903

RÉSULTATS

DES

CAMPAGNES SCIENTIFIQUES

ACCOMPLIES SUR SON YACHT

PAR

ALBERT Ier

PRINCE SOUVERAIN DE MONACO

PUBLIÉS SOUS SA DIRECTION

AVEC LE CONCOURS DE

M. JULES RICHARD

Docteur ès-sciences, chargé des Travaux zoologiques à bord

FASCICULE XXIV

Recherches sur l'existence normale de l'arsenic dans l'organisme

Par GABRIEL BERTRAND

AVEC CINQ FIGURES DANS LE TEXTE

IMPRIMERIE DE MONACO

1903

RECHERCHES

SUR

L'EXISTENCE NORMALE DE L'ARSENIC

DANS L'ORGANISME

PAR

GABRIEL BERTRAND

RECHERCHES

SUR

L'EXISTENCE NORMALE DE L'ARSENIC

DANS L'ORGANISME

PAR

GABRIEL BERTRAND

LA QUESTION DE L'ARSENIC NORMAL

Les premiers essais entrepris pour découvrir de petites quantités d'arsenic au milieu d'une masse relativement grande de matières organiques ont eu pour but de fournir des preuves matérielles et irréfutables à la Justice dans certains cas d'empoisonnement.

Ce but a d'abord été assez facile à atteindre : le toxique, presque toujours sous forme d'acide arsénieux, étant administré en quantités notables. Mais, peu à peu, les criminels sont devenus circonspects et l'on a dû recourir à des méthodes plus puissantes, permettant de retrouver le poison même dans les cas où il avait été employé à doses minimes, savamment calculées et prudemment espacées.

La méthode de Marsh, publiée en 1836 (**13**), a répondu à cette nécessité. Combinée, comme on l'a fait un peu plus tard, avec la destruction préalable des matières organiques, elle a permis de déceler une fraction de milligramme d'arsenic, même lorsque le métalloïde était entré en combinaison avec les tissus de l'organisme.

[1] Les chiffres imprimés en caractères **gras** entre parenthèses, renvoient aux numéros de l'*Index bibliographique* placé à la fin du Travail.

Une difficulté d'un ordre spécial est alors apparue. On s'est demandé si une dose aussi minime d'arsenic, retrouvée dans les organes, suffisait à établir la preuve d'un empoisonnement; si, au contraire, il n'y avait pas normalement des traces d'arsenic dans le corps de l'homme.

Cette question, dont on conçoit l'extrême gravité, a donné lieu, aussitôt posée, à de nombreuses expériences et à de vives discussions. On a repris avec soin l'étude des méthodes de recherche, essayé de nouveaux moyens de destruction des matières organiques, modifié l'appareil primitif de Marsh. Au lieu d'obtenir la solution désirée, on est resté dans l'alternative : les uns pouvant prétendre que les viscères renferment toujours de l'arsenic, les autres que c'est là une erreur, qu'on ne peut trouver trace du métalloïde quand on opère dans des conditions convenables.

Une Commission de l'Académie des Sciences, composée de Thénard, Dumas, Boussingault et Regnault, fut nommée pour donner son avis à ce sujet. Après de nombreuses expériences, à la suite desquelles a été préconisée la forme d'appareil de Marsh que tout le monde connaît aujourd'hui, elle émit l'opinion qu'on ne peut trouver ordinairement d'arsenic dans le corps humain. La neuvième conclusion de son rapport, est en effet, ainsi conçue :

« Quant à l'arsenic que l'on avait annoncé dans le corps de l'homme à l'état normal, toutes les expériences que nous avons faites, tant sur la chair musculaire que sur les os, nous ont donné des résultats négatifs (10) ».

Cette conclusion, formulée par des hommes dont la science et l'habileté expérimentale étaient incontestées, eut, on peut dire, jusqu'à ces dernières années, une influence prépondérante. On dénia formellement l'existence de l'arsenic normal et, comme une série d'observations démontrèrent par la suite qu'une foule de produits médicamenteux, hygiéniques et même alimentaires, contiennent de l'arsenic, on crut très suffisant d'expliquer par là la présence de traces du métalloïde dans le corps de l'homme, quand on en trouvait, sans avoir à incriminer ni les méthodes de travail, ni les réactifs employés.

Tel était l'état de la question de l'arsenic normal quand parurent les recherches de M. A. Gautier (8, 9). Ayant étudié à nouveau les procédés de destruction des matières organiques et la conduite de l'appareil de Marsh, il parvint à isoler, beaucoup plus facilement qu'on l'avait fait avant lui, de très petites quantités d'arsenic mélangé à des tissus animaux. La sensibilité de sa méthode permit de reconnaître jusqu'à $\frac{1}{100}$ ou $\frac{1}{200}$ de milligramme d'arsenic.

En appliquant cette méthode perfectionnée à l'étude des organes de l'homme et de quelques animaux, M. A. Gautier est arrivé, pour sa part, à la conviction que l'arsenic est un élément normal. Mais, tandis que Couerbe, Orfila, Devergie, Raspail, etc., laissent supposer l'existence de l'arsenic à peu près indifféremment dans toutes les parties de l'économie, M. A. Gautier soutient, au contraire, que ce métalloïde est localisé dans certains organes et qu'on ne peut en retrouver dans les autres.

Voici les principaux résultats sur lesquels il s'appuie.

Arsenic en milligramme pour 100 gr. d'organes frais (**10**).

Glande thyroïde	0^{mg} 75
Glande mammaire	0^{mg} 13
Cerveau	Quantité très variable ou nulle
Thymus	Quantité très sensible, non dosée
Poils, cheveux, cornes	Traces décroissantes
Peau	Traces décroissantes
Lait	Traces décroissantes
Os	Traces décroissantes
Foie, reins, muscles, testicules, etc.	Absence complète

Comme on voit, la glande thyroïde est de tous les organes celui où se rencontre la plus forte proportion d'arsenic : au moins la moitié de la provision totale du corps, d'après l'évaluation même de M. A. Gautier. La glande mammaire vient après ; enfin, les dernières traces se retrouvent dans la peau et ses annexes.

Aussi a-t-on choisi la glande thyroïde quand on a voulu vérifier les faits importants signalés par M. A. Gautier. Hödlmoser (**11**), Ziemke (**18**), Cerny (**4**) ont publié successivement le résultat de leurs expériences sur ce sujet. Chose curieuse, ils sont arrivés tous à des résultats négatifs. D'après eux, l'arsenic n'aurait aucun rôle physiologique ; sa présence, si on la constate quelquefois, serait purement accidentelle et, selon toute vraisemblance, liée à la constitution géologique du sol.

Ces résultats nous ramènent à la conclusion formulée en 1841 par la Commission de l'Académie des Sciences, conclusion à laquelle Orfila, un des promoteurs de l'idée de l'arsenic normal, avait d'ailleurs fini par se rallier.

On peut se demander maintenant comment de si nombreux et si habiles chimistes ont pu arriver, dans l'étude de l'arsenic normal, aux résultats contradictoires qui viennent d'être exposés. La question vaut la peine d'être examinée et résolue, à cause de son importance, tant au point de vue analytique, qu'au point de vue médico-légal ou physiologique.

Ces résultats contradictoires tiennent, selon moi, à deux causes principales : d'une part, à l'insensibilité relative de la méthode de Marsh, telle qu'on l'employait jusqu'ici ; de l'autre, à l'impureté des réactifs utilisés pour la destruction des matières organiques.

La première cause suffit, sans qu'il soit nécessaire de pénétrer plus avant dans le détail, pour expliquer les résultats négatifs de la plupart des savants qui ont cherché l'arsenic dans les organes de l'homme.

L'arsenic existe, comme on le verra plus loin, dans les divers tissus de l'économie, chez l'homme et chez les animaux. Mais, en général, c'est à un si grand degré

de dilution qu'il faut une méthode extraordinairement sensible pour le mettre en évidence.

Au premier abord, il semble que cette dilution ne soit pas un obstacle difficile à surmonter, qu'en attaquant un poids suffisant d'organe, on puisse toujours libérer assez d'arsenic pour le reconnaître, même avec une méthode de sensibilité moyenne. En fait, il n'en est rien.

La plupart des méthodes d'attaque, comme l'a établi M. A. Gautier (8), conduisent à des pertes sensibles d'arsenic; si ces pertes dépassent le poids de métalloïde existant à l'état normal dans les organes, on peut prendre n'importe quelle quantité de ceux-ci : il reste impossible d'y découvrir l'arsenic.

D'autre part, et nous arrivons ici à l'examen de la seconde cause de désaccord, si l'on veut détruire un poids considérable d'organe, il faut employer une quantité également considérable de réactifs. On court alors le risque d'introduire dans le produit de l'attaque une proportion sensible d'arsenic, ce métalloïde étant une impureté fréquente, sinon constante, de presque tous les réactifs.

Sous ce rapport, l'acide nitrique, d'abord employé par Orfila, puis en mélange avec d'autres réactifs (chlorate de potassium, acide sulfurique, etc.) par un grand nombre d'expérimentateurs, a été particulièrement dangereux.

Contrairement à l'opinion courante, j'ai reconnu en effet, que l'acide nitrique du commerce, même le plus pur, renferme toujours une proportion appréciable d'arsenic. Comme ce dernier corps ne peut exister, pense-t-on, qu'à l'état d'acide arsénique non volatil, la distillation doit suffire pour donner de l'acide nitrique pur[1]. Ce raisonnement n'est pas tout à fait exact. A la température d'ébullition de l'acide nitrique, la combinaison arsenicale qui se trouve dans l'acide possède déjà une tension de vapeur appréciable : $\frac{1}{3\,000\,000}$ environ de celle de l'acide nitrique. Si donc, on distille un réactif contenant plus de $\frac{1}{3\,000\,000}$ d'arsenic, une partie de ce dernier reste dans la cornue et l'acide qui passe est notablement purifié.

Mais, à partir de ce point, une seconde et même une troisième distillation ne peuvent plus diminuer la teneur arsenicale de l'acide nitrique; ce qui distille est un véritable mélange eutectique, de composition invariable, contenant environ une partie d'arsenic pour 3 000 000 d'acide nitrique.

Cet acide au $\frac{1}{3\,000\,000}$ est sans doute le plus pur qu'on ait employé jusqu'ici. Avec ma méthode de recherche de l'arsenic, il devient tout à fait inutilisable.

J'ai dû chercher un moyen de le purifier davantage. Celui que j'ai trouvé permet de le débarrasser pour ainsi dire complètement de son impureté. Il consiste à distiller l'acide nitrique après l'avoir mélangé avec $\frac{1}{10}$ de son poids d'acide sulfurique pur. Ce dernier retient presque tout le métalloïde. Après plusieurs opérations semblables on obtient un réactif aussi pur qu'on le désire. Celui que j'ai employé dans les recherches

[1] En général, on ajoute un peu d'azotate d'argent pour retenir le chlore et empêcher l'arsenic de distiller à l'état de chlorure.

rapportées à la fin de ce mémoire ne renfermait déjà plus que $\frac{1}{600\,000\,000}$ d'arsenic. On pourrait le purifier encore, s'il était nécessaire [1].

Ceci posé, il est facile de comprendre qu'en détruisant un organe par l'acide nitrique, une partie de l'arsenic apporté par l'acide soit retenue par la matière organique, celle-ci agissant, en dehors des réactions chimiques, de la même façon que l'acide sulfurique dans le procédé de purification. Cette rétention de l'arsenic est encore plus importante quand on opère la destruction en présence d'acide sulfurique, comme dans les procédés de Filhol, de M. A. Gautier, etc.

Si l'organe est facile à détruire, on n'emploie pas beaucoup d'acide nitrique et l'arsenic introduit peut être en quantité trop faible pour être décelable par l'appareil de Marsh. Si, au contraire, l'organe résiste beaucoup à l'action du réactif, on est obligé de prendre une plus forte proportion de celui-ci; l'impureté s'accumule dans le résidu de l'attaque jusqu'au moment où, la sensibilité de l'appareil de Marsh étant atteinte, on voit apparaître un anneau arsenical.

Naturellement, plus la destruction a été difficile, plus on trouve d'arsenic. Ce n'est pas seulement le métalloïde qui était contenu dans la matière organique qu'on isole avec l'appareil de Marsh (il pouvait n'y en pas avoir), c'est aussi celui qu'on a introduit avec les réactifs.

Le résultat final de l'expérience ne dépend donc que du rapport qui existe, d'une part, entre le poids total d'arsenic contenu dans les organes et apporté par les réactifs et, d'autre part, le degré de sensibilité de la méthode de Marsh.

Dans toutes les recherches qui ont été publiées jusqu'ici concernant l'existence de l'arsenic dans l'organisme, on a négligé d'établir ce rapport : les résultats ont été négatifs quand la limite de sensibilité de la méthode de Marsh était au-dessus du poids d'arsenic introduit dans l'appareil; ils ont été positifs quand cette limite était au-dessous. Mais on ne peut dire, dans le dernier cas, quelle proportion de l'arsenic obtenue revenait à l'organe examiné, quelle proportion était due à l'emploi des réactifs.

En général, la quantité d'arsenic existant à l'état normal dans les organes était bien inférieure à celle qu'on pouvait découvrir avec l'appareil de Marsh et on n'a obtenu de résultats positifs qu'avec des réactifs insuffisamment purifiés.

En conséquence de cette discussion, on peut dire que pour résoudre le problème de l'arsenic normal, il faut tout d'abord disposer d'une méthode de recherche de l'arsenic beaucoup plus sensible que celle dont on dispose aujourd'hui.

L'emploi de cette nouvelle méthode exigera nécessairement des réactifs d'une extrême pureté et, comme dans un ordre de recherches aussi délicates, les résultats qualitatifs ne sauraient suffire, on opérera toujours quantitativement.

[1] L'examen de l'acide se fait en évaporant dans une capsule de porcelaine contrôlée 300gr de réactif, versés par portions, avec 20gr d'acide sulfurique pur. L'évaporation est poursuivie jusqu'à ce qu'il ne reste plus qu'une quinzaine de grammes d'acide sulfurique; on dilue alors de quatre à cinq parties d'eau et, après refroidissement, on introduit dans l'appareil de Marsh.

Si on arrive alors, avec des matériaux d'étude bien choisis, à isoler des poids d'arsenic supérieurs à ceux qu'on aurait pu introduire avec les réactifs, on sera en droit d'admettre l'existence de ce métalloïde dans les organes examinés.

Ces considérations m'ont servi de guide dans toutes les recherches que j'ai publiées sur l'arsenic normal (**1**, **2**). C'est pourquoi j'ai toujours indiqué, en même temps que le poids d'arsenic obtenu dans une expérience, la quantité et le degré de pureté des réactifs qu'il avait fallu employer pour détruire la matière organique.

Maintenant que j'ai mis au point la question de la recherche de l'arsenic normal, je vais décrire les moyens à l'aide desquels j'ai pu aborder à mon tour ce problème difficile; j'indiquerai ensuite les conditions très spéciales dans lesquelles je me suis placé pour m'assurer que l'arsenic existe réellement dans l'organisme à l'état normal.

La méthode de Marsh

Parmi les diverses méthodes proposées pour reconnaître de très petites quantités d'arsenic, la plus ancienne, celle de Marsh, est de beaucoup la plus employée. Elle a reçu peu à peu de nombreuses et utiles modifications et tous les savants qui se sont occupés de l'arsenic normal y ont eu recours. On s'en sert aussi d'une manière courante dans les laboratoires de toxicologie.

C'est à cette méthode que j'ai donné la préférence, mais, après l'avoir perfectionnée de telle sorte qu'elle est devenue de beaucoup la plus exacte et la plus sensible : elle permet aujourd'hui d'isoler avec certitude une quantité d'arsenic aussi petite qu'un demi-millième de milligramme.

On se rappelle le principe de cette méthode et, peut-être aussi, l'appareil primitif de Marsh. Quand on fait agir l'acide sulfurique sur le zinc, au sein d'une solution arsenicale, l'arsenic passe presque entièrement à l'état d'hydrure gazeux et se dégage avec l'excès d'hydrogène.

Lorsqu'on enflamme ce mélange, l'hydrure d'arsenic, facilement décomposable par la chaleur, se sépare en ses éléments : l'hydrogène brûle et donne de la vapeur d'eau, l'arsenic fournit, de son côté, de l'acide arsénieux.

Si, au lieu de laisser brûler le mélange à l'air libre, on refroidit la flamme en l'écrasant avec un morceau de verre ou de porcelaine, l'arsenic mis en liberté échappe en partie à la combustion et se dépose sur le corps solide. Il y produit une tache noire, miroitante, qu'on peut aisément caractériser par l'ensemble de ses réactions.

L'appareil imaginé par Marsh pour réaliser ces expériences est extrêmement simple. Il consiste en un tube de verre *a a*, d'environ 2^{cm} de diamètre intérieur et courbé en forme de siphon. La branche la plus courte a environ 13^{cm} de longueur; elle est fermée par un bouchon que traverse un robinet *b* terminé en pointe fine. L'autre, de 21^{cm} de longueur, reste ouverte. Pour tenir le tube dans une position verticale, on le fixe sur un bloc de bois à l'aide de deux bandes de caoutchouc.

Pour se servir de l'appareil, on y met d'abord une lame de zinc, maintenue dans la courbure, du côté de la petite branche, par un morceau de baguette de verre. On verse ensuite, par la grande branche, assez de liquide à examiner pour que le niveau atteigne, le robinet étant ouvert, jusqu'au voisinage du bouchon. On ferme le robinet.

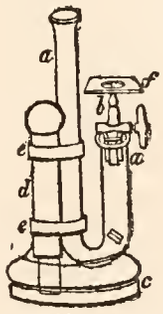

Fig. 1.
Reproduction originale.

Le gaz qui se dégage s'accumule dans la petite branche et repousse le liquide acide dans la grande. Après un instant, le contact cesse entre ce liquide et le zinc et le dégagement s'arrête. On ouvre le robinet ; on allume le jet gazeux et, en écrasant la flamme avec un morceau de verre froid, on essaie d'obtenir une tache arsenicale. Quand il n'y a plus assez de gaz, on en prépare une nouvelle provision en fermant le robinet. On peut obtenir de la sorte tout une série de taches.

Marsh a proposé un second appareil, pour le cas où le volume de liquide suspect est plus considérable.

Comme on le voit dans la figure 2, c'est une sorte de briquet à hydrogène. Le vase extérieur *a* contient environ 4 litres ; *c* est un morceau de zinc suspendu au

Fig. 2.
Reproduction originale.

bouchon de la cloche à l'aide d'un fil. Le fonctionnement de cet appareil est facile à comprendre sans autre explication.

Un défaut de la méthode primitive de Marsh est de laisser perdre une partie de l'arsenic, ce qui diminue d'autant sa sensibilité. Tout le métalloïde existant dans le jet de gaz enflammé ne se dépose pas sur le corps froid qui sert à recueillir les taches : une proportion notable brûle et disparaît dans l'atmosphère à l'état d'acide arsénieux. Ce défaut augmente avec la grandeur de la flamme, car le refroidissement devient

alors plus difficile. Malgré tout, Marsh obtenait encore des taches avec un peu moins de $\frac{1}{2}$ milligramme d'arsenic.

Liebig (**12**), puis Berzélius (**3**), ont diminué la perte du métalloïde en joignant au robinet un tube de verre de petit diamètre, recourbé à angle droit, qu'ils chauffaient en un point de sa portion horizontale. L'hydrure d'arsenic se dissociait lorsqu'il passait en ce point : la vapeur du métalloïde, entraînée par le gaz, allait se condenser dans la région froide du tube où elle donnait un anneau noir, tandis que l'hydrogène se dégageait.

Depuis lors, l'appareil de Marsh a subi une foule d'améliorations, les unes ayant pour but d'assurer la décomposition complète de l'hydrure d'arsenic; les autres, d'éviter l'entraînement de gouttelettes acides qui produisaient des erreurs, etc.

Toutes ces améliorations ont été réunies dans l'appareil préconisé en 1841 par la Commission de l'Académie des Sciences. Dans cet appareil, qui est lui-même un perfectionnement du modèle proposé par Koeppelin et Kampmann (**16**), le gaz, produit en A, abandonne les gouttelettes qu'il pouvait entraîner, d'abord dans la boule C, puis

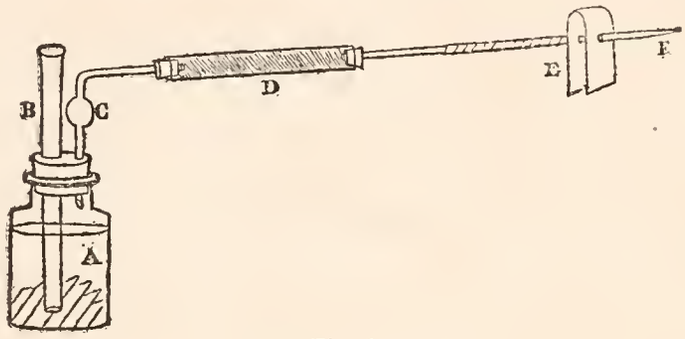

Fig. 3.
Reproduction originale.

dans un gros tube D, garni d'amiante. Il passe ensuite dans un second tube, en verre peu fusible, de 2^{mm} à 3^{mm} de diamètre intérieur. C'est là qu'il subit l'action de la chaleur. A cet effet, le second tube, ou tube à analyse, est enveloppé d'une feuille de clinquant sur une longueur d'environ 10^{cm}. On entoure cette partie de charbons placés sur une grille. Un petit écran E empêche le tube de s'échauffer à une distance trop grande et favorise le dépôt de l'enduit arsenical.

Les membres de la Commission ont observé ce fait important « que les taches ne se montrent pas mieux avec de grandes quantités de liquide, qu'avec de petites quantités renfermant la même proportion d'arsenic, et qu'il y a avantage dans le procédé de Marsh à opérer sur des liqueurs concentrées, quand il s'agit de rendre sensibles de très petites traces d'arsenic ».

D'après leurs expériences, la limite de sensibilité de la méthode, avec leur appareil, correspondait au $\frac{1}{50}$ de milligramme, quantité avec laquelle on pouvait obtenir quelques taches jaunâtres. Mais il fallait, pour cela, opérer dans un très petit flacon, avec un volume de liquide de 40^{cm3} environ.

Si cette méthode permettait d'obtenir de l'arsenic sous forme de taches ou d'anneau, même lorsqu'il y en avait très peu dans le liquide, elle ne permettait pas d'obtenir tout l'arsenic contenu dans ce liquide.

Comme on l'a reconnu plus tard, une partie de l'hydrure gazeux échappait à la décomposition dans le tube chauffé et les taches qu'on pouvait encore produire, il est vrai, étaient loin de récupérer le reste du métalloïde.

C'est précisément ce défaut qui a engagé M. A. Gautier à reprendre l'étude de la méthode de Marsh. Ayant eu besoin de doser de petites quantités d'arsenic dans les organes d'animaux empoisonnés dans un but expérimental, il a cherché les conditions dans lesquelles on devait se placer pour obtenir, sous forme d'anneau, la totalité du métalloïde introduit dans le flacon à hydrogène. On atteint ce résultat quand le courant de gaz ne dépasse pas une certaine vitesse et que le tube à analyse est chauffé sur 20^{cm} à 25^{cm} de longueur. Chaque opération dure 2 heures et demie à 3 heures et consomme 40^{g} à 50^{g} d'acide sulfurique.

On sait que le zinc pur s'attaque très mal par l'acide sulfurique étendu. Pour favoriser le dégagement gazeux, on a proposé d'ajouter au mélange quelques gouttes d'une solution diluée de sulfate de cuivre ou de chlorure de platine. M. A. Gautier a démontré que l'usage du sel de cuivre devait être évité, car il entraîne la perte d'une quantité considérable d'arsenic, lequel se précipite dans le flacon à hydrogène, soit à l'état de métalloïde pur, soit à l'état d'hydrure solide. Le chlorure de platine seul est recommandable (8).

En tenant compte de toutes ces observations, M. A. Gautier arrive à déceler l'arsenic jusqu'au $\frac{1}{200}$ de milligramme.

Cette sensibilité, pourtant très remarquable, m'a paru encore insuffisante pour aborder convenablement l'étude de l'arsenic normal.

Une telle exigence est d'ailleurs justifiée, non seulement par les raisons que j'ai données dans la première partie de ce mémoire, mais aussi par ce fait que la méthode de Marsh, du moins comme on la pratique d'habitude, devient irrégulière dans ses résultats lorsqu'il s'agit de quantités d'arsenic excessivement petites, avoisinant la limite de sensibilité. Il peut très bien arriver alors, qu'un anneau arsenical obtenu dans une première expérience, soit à peine visible ou tout à fait absent dans une seconde, conduite en apparence de la même manière.

Cette irrégularité, très préjudiciable à la précision des résultats, est due à des pertes d'arsenic, variables d'une expérience à l'autre. Le meilleur moyen de la faire disparaître ou d'en atténuer les effets est de restreindre les pertes, autrement dit, d'augmenter la sensibilité de la méthode.

Or, la première cause de perte de l'arsenic est la présence de petites quantités d'oxygène qui restent dans l'appareil au début de l'opération ou qui y pénètrent, soit en dissolution dans le liquide arsenical, soit par diffusion dans l'intérieur du tube à analyse, quand l'anneau est déjà formé.

L'arsenic est, en effet, très oxydable; malgré la présence d'hydrogène, il passe à

l'état d'acide arsénieux, dont le dépôt cristallin et de couleur blanche est beaucoup plus difficile à apercevoir. Vers la limite, quand il y a trop peu de substance, on ne voit plus rien du tout[1].

On évite cette oxydation, ainsi qu'on le verra plus loin, en purgeant complètement l'appareil de l'air qu'il renferme et en évitant la communication de l'atmosphère avec l'intérieur du tube à analyse.

Une autre cause de perte qui cumule ses effets avec la précédente pour diminuer la sensibilité de la méthode ordinaire de Marsh, tient à la limite de la tension de dissociation de l'hydrure d'arsenic et au degré de dilution du liquide arsenical contenu dans l'appareil.

Quand on décompose l'hydrure d'arsenic par la chaleur, l'hydrogène et l'arsenic se séparent presque complètement, la tension de dissociation de ce corps à la température du rouge étant considérable. Il y a, néanmoins, une limite à cette décomposition; c'est le moment où le mélange gazeux ne contient plus que juste la proportion d'hydrure d'arsenic qui prendrait naissance si, dans les mêmes conditions de température et de pression, on faisait réagir l'hydrogène pur sur l'arsenic.

A partir de ce moment, la décomposition s'arrête. Par refroidissement, la vapeur d'arsenic se condense et il reste un mélange d'hydrogène et d'hydrure arsenical indécomposable.

On peut obtenir d'emblée le même mélange en diluant l'hydrure d'arsenic dans une quantité convenable d'hydrogène. C'est ce qui arrive involontairement dans la méthode de Marsh lorsque le liquide acide introduit dans l'appareil ne contient pas une proportion suffisante d'arsenic. Tandis que l'hydrogène se dégage avec une vitesse presque invariable, en rapport avec la dose d'acide sulfurique, l'hydrure arsenical ne se produit plus qu'avec une excessive lenteur, et sa proportion dans le mélange gazeux tombe, à partir d'une certaine dilution de la liqueur, jusqu'à la limite de tension de dissociation indiquée plus haut. Quelle que soit alors la durée de l'expérience et la quantité de gaz qui passe dans le tube chauffé, il ne se dépose pas d'arsenic.

Le moyen d'éviter cette nouvelle cause de perte est donc de concentrer la trace d'arsenic que l'on veut mettre en évidence dans un petit volume de liquide et, en même temps, d'éviter l'emploi d'une forte proportion d'acide sulfurique qui dégagerait trop d'hydrogène.

D'habitude, on purge l'appareil de Marsh en y faisant réagir, pendant assez longtemps, de l'acide étendu sur le zinc. C'est seulement quand on juge l'air ou presque tout l'air chassé par l'hydrogène qu'on commence à introduire la solution arsenicale.

Mais à ce moment, le flacon renferme un volume déjà notable de liquide. La

[1] L'oxydation de l'arsenic s'opère même assez vite à la température ordinaire dans les tubes où on conserve les anneaux, si l'on n'a pas pris la précaution de sceller les tubes pleins d'hydrogène sec. A la place du dépôt noir, bien visible du métalloïde, on n'a plus, après quelque temps, qu'une trace blanchâtre d'acide arsénieux, quelquefois imperceptible, même sur un fond noir.

solution arsenicale s'y trouve donc diluée, contrairement à l'une des conditions à remplir pour atteindre une grande sensibilité.

On obtient une purge complète et rapide de l'appareil de Marsh, sans être obligé d'introduire une quantité nuisible de liquide, en se servant d'une source accessoire d'hydrogène pur ou d'anhydride carbonique. Les bombes de gaz comprimés qu'on trouve aujourd'hui dans tous les laboratoires sont particulièrement commodes pour cet usage.

Une autre condition indispensable pour retrouver des traces minimes d'arsenic est de condenser les vapeurs du métalloïde sur un espace aussi petit que possible. Sans cela l'enduit deviendrait invisible par défaut d'épaisseur.

Je me sers dans ce but, comme tubes à analyse, de tubes en verre peu fusible n'ayant pas plus de 1^{mm} de diamètre intérieur. La paroi de ces tubes est assez épaisse afin d'éviter les déformations; elle atteint près de 2^{mm}. En outre, pour que l'enduit ne s'étale pas sur une trop grande longueur, je favorise la condensation immédiate des vapeurs arsenicales en entourant le tube, à une petite distance de la partie chauffée, avec un petit réfrigérant.

Celui-ci se compose tout simplement d'une petite bande de papier à filtrer, de $0^{m}05$ de largeur; cette bande fait 3 ou 4 fois le tour du tube et reçoit de l'eau, goutte à goutte, d'un petit réservoir placé au-dessus. L'excès d'eau s'écoule par l'extrémité libre de la bande qui pend sur une longueur de 1^{cm} à 2^{cm}. L'anneau d'arsenic, rassemblé ainsi sur un très petit espace, ne risque plus d'échapper à l'observation. Avec des quantités de métalloïde supérieures au $\frac{1}{100}$ de milligramme, l'usage du petit réfrigérant n'est plus nécessaire.

Il faut éviter les tubes en verre plombeux. Je me suis servi quelque temps de tiges à thermomètres, émaillées d'un côté. Au rouge, sous l'influence réductrice de l'hydrogène, du plomb qui diffusait de la couche d'émail jusqu'à l'intérieur du tube était mis en liberté et retenait une partie de l'arsenic. Les anneaux étaient beaucoup moins nets qu'avec les tubes en verre vert dont je préconise exclusivement l'usage.

Les tubes à analyse doivent être très propres. On les lave à l'acide sulfurique chaud ou à l'eau régale, puis à l'eau distillée et même à l'alcool et à l'éther; on les dessèche ensuite complètement. Leur longueur est d'environ 30^{cm}. Il est recommandable d'en préparer d'avance une provision; on les étire et on les ferme à chaque extrémité; de cette façon ils restent propres jusqu'au moment du besoin.

Le modèle d'appareil avec lequel j'ai fait presque toutes mes recherches comprend d'abord un flacon F, d'environ 90^{cm3} de capacité, où a lieu la réduction du composé arsenical par le mélange de zinc et d'acide sulfurique. On y verse la solution arsenicale par l'intermédiaire d'une ampoule à robinet A, fixée sur l'entonnoir E à l'aide d'un bouchon. Ce dispositif permet de se rendre compte de la vitesse d'écoulement du liquide; en outre, il agit comme purgeur et évite l'entraînement de l'air dans l'intérieur de l'appareil, au cas où il se formerait un chapelet de bulles au-dessous de la clef.

Les plus grosses gouttelettes de liquide dues à l'effervescence se déposent dans la boule placée en F au-dessus du bouchon, et le gaz achève de se dessécher en passant dans le tube L. A cet effet, celui-ci est rempli de coton hydrophile, préalablement chauffé à + 110° ou 120°. La cellulose ainsi déshydratée retient énergiquement la vapeur d'eau sans agir sur la composition du gaz, comme le chlorure de calcium, la potasse ou l'acide sulfurique.

L'hydrogène et l'hydrure d'arsenic passent ensuite dans le tube à analyse où se fait la décomposition, puis le dépôt d'arsenic. Ce tube est entouré d'une chemise de clinquant et repose sur deux petites fourches mobiles, au-dessus de la rampe à gaz R, de 10^{cm} de longueur. Le petit réfrigérant de papier P est situé presque immédiatement à la suite de la rampe à gaz. C'est à cet endroit que l'anneau d'arsenic se dépose.

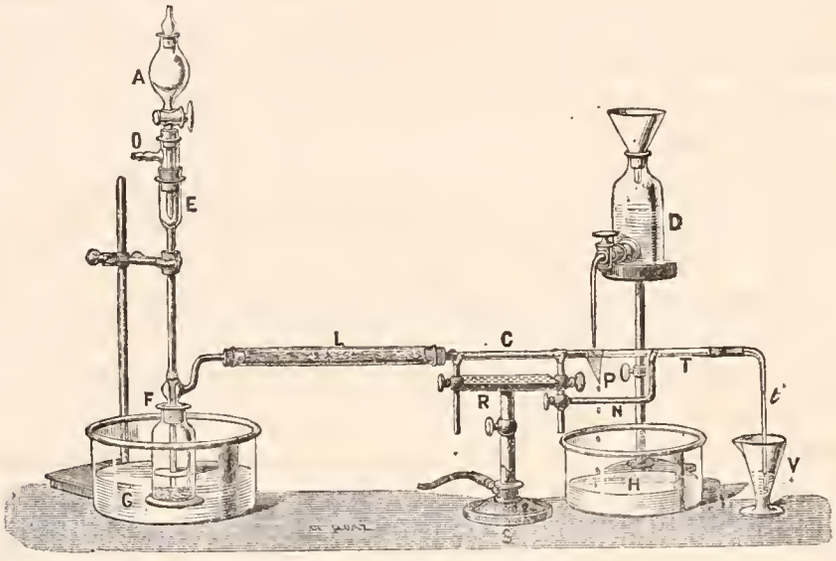

Fig. 4.

Enfin, la partie terminale du tube à analyse est reliée avec un petit tube coudé plongeant dans l'eau, de manière à pouvoir contrôler, au début, l'étanchéité de l'appareil et, pendant l'opération, la vitesse du dégagement gazeux.

La tige, à hauteur réglable N, empêche le tube à analyse de se courber sous l'effort de son poids lorsqu'il est ramolli par la chaleur rouge.

Quand on veut se servir de cet appareil, on prépare d'abord un peu de zinc platiné. 10^g à 20^g de zinc pur en grenaille [1] sont placés dans un verre, avec une trentaine de centimètres cubes d'eau légèrement teintée en jaune par une ou deux gouttes de

[1] Pour avoir du zinc exempt d'arsenic, on fond du zinc ordinaire dans un creuset avec du chlorure d'ammonium et on brasse vivement le mélange à l'aide d'un bâton en bois vert. L'arsenic se volatilise sous forme de chlorure en même temps que du zinc et l'excès de sel ammoniac.

Quand l'opération est terminée, on distille le zinc dans une cornue, en séparant les premières portions. Celles-ci peuvent servir à d'autres usages.

solution de chlorure de platine. Après quelques instants, la surface du zinc est devenue gris noir. On rejette le liquide, on lave le zinc avec un peu d'eau distillée et on l'introduit dans le flacon F.

L'appareil est monté comme on le voit dans la figure 4. On y fait passer par la tubulure O, un bon courant de gaz carbonique ou d'hydrogène pur, qui chasse l'air en quelques minutes. Le plus habituellement, je me sers d'anhydride carbonique. Ce gaz, très dense, arrivant au fond du flacon F, déplace plus rapidement l'air que ne pourrait le faire l'hydrogène. Il est aussi beaucoup moins coûteux.

Quand cette première partie de la purge est terminée, on verse sur le zinc, par l'intermédiaire de l'ampoule, 10^{cm3} d'acide sulfurique au cinquième [1].

Une effervescence très vive se déclare, le plus souvent avec excès de pression, à cause de l'écoulement limité du gaz par le tube capillaire. Pendant qu'elle s'accomplit, on porte le tube à analyse au rouge sombre et on règle le petit réfrigérant. Après 10 à 15 minutes, l'effervescence est presque entièrement calmée; le zinc est recouvert d'une petite couche de liquide et l'appareil, tout à fait exempt d'oxygène et d'anhydride carbonique, est prêt à servir.

On introduit, très lentement, la solution dans laquelle on recherche l'arsenic (quelques centimètres cubes). Lorsque cette solution est écoulée, on lave l'ampoule, en plusieurs fois, avec 20^{cm3} d'acide sulfurique à 10 pour 100, en laissant chaque portion couler goutte à goutte dans le flacon F. On termine le lavage avec 10^{cm3} d'acide au cinquième.

Le dégagement gazeux doit être très lent, sinon une partie de l'hydrure d'arsenic échappe à la décomposition, malgré l'étroitesse du tube. Il doit être aussi très régulier, pour que l'anneau se dépose au même endroit du tube, du commencement à la fin de l'opération. Une vitesse convenable est celle de 4^{cm3} à 5^{cm3} par minute. On l'apprécie facilement, quand on a déjà fait quelques mesures, au nombre des bulles qui barbottent dans le petit verre. Au début, quand le gaz formé n'a pas encore atteint le tube à analyse, on peut admettre une vitesse un peu plus grande pour gagner du temps.

L'anneau d'arsenic apparaît, suivant la quantité de métalloïde et la vitesse du courant gazeux, entre 5 minutes et 1 heure. Après 2 à 3 heures, l'opération est généralement terminée [2].

[1] Pour purifier l'acide sulfurique, on le dilue avec quatre parties d'eau contenant en dissolution un à deux millièmes de sulfate d'argent; on ajoute un peu d'acide sulfureux, pour réduire l'acide arsénique, on fait bouillir jusqu'à disparition d'odeur et on traite par l'hydrogène sulfuré. Après 24 heures de repos en flacon bouché, ou filtre le dépôt de sulfure d'argent qui a fixé le sulfure d'arsenic; on chasse l'hydrogène sulfuré par ébullition; on filtre à nouveau pour séparer le soufre; enfin, on concentre, s'il est nécessaire. Autant que possible, on ne fait bouillir l'acide que dans la porcelaine ou le platine.

[2] Si l'on veut conserver l'anneau, on détache le tube coudé; on ferme à la flamme d'un brûleur de Bunsen l'extrémité libre du tube à analyse et on éteint la rampe à gaz. Après le refroidissement, on sépare avec précaution le tube à analyse du filtre à coton et l'on bouche rapidement l'extrémité ouverte de ce tube avec une goutte de paraffine (en le plongeant dans la paraffine fondue). Le tube reste alors plein d'hydrogène. On le scelle aussitôt à la lampe, sans laisser rentrer l'air, entre l'anneau et la partie chauffée.

Les résultats obtenus témoignent d'une extraordinaire sensibilité. Il suffit d'introduire un $\frac{1}{2}$ millième de milligramme d'arsenic dans l'appareil pour voir apparaître sûrement un anneau et un anneau très net. Avec une dose double, c'est-à-dire $\frac{1}{1\,000}$ de milligramme, l'anneau devient déjà visible sur 2^{mm} à 3^{mm} de longueur.

La destruction des matières organiques

On ne peut obtenir des résultats aussi remarquables lorsque la solution examinée renferme des matières organiques en même temps que l'arsenic.

Marsh avait déjà reconnu l'inconvénient que présentent souvent ces matières organiques de former dans son appareil une mousse persistante, laquelle sort par le robinet, gêne ou empêche la combustion du gaz et la production des taches. Aussi avait-il recommandé, dans ces cas, d'ajouter un peu d'huile ou d'alcool à la surface du liquide.

Orfila a proposé une mesure plus radicale : celle de détruire les matières organiques par un réactif énergique. Il ne reste plus alors avec le métalloïde à l'état d'acide arsénique que des sels solubles sans aucun inconvénient.

Cette méthode permet d'opérer directement sur les organes, au lieu de leurs extraits aqueux, et présente l'avantage de libérer l'arsenic de ses combinaisons insolubles avec les tissus, combinaisons grâce auxquelles il aurait certainement échappé.

Orfila détruisait les matières organiques et les tissus en les chauffant avec de l'acide nitrique. Arrivé à un certain point de l'évaporation, la masse se décomposait brusquement et l'on obtenait une sorte de charbon qu'on épuisait par l'eau bouillante. La solution filtrée était alors introduite dans l'appareil de Marsh.

C'est avec cette méthode que Couerbe, puis Orfila, avaient cru tout d'abord reconnaître l'existence normale de l'arsenic dans les tissus (**14**).

La méthode de destruction des matières organiques a subi de nombreuses modifications. Danger et Flandin ont remplacé l'acide nitrique par l'acide sulfurique (**5**), Filhol s'est servi d'un mélange des deux acides (**7**). On a proposé aussi l'incinération des tissus avec du nitrate de potassium, utilisé l'action du chlore en présence de l'acide chlorhydrique, etc. M. A. Gautier, qui a étudié comparativement ces modifications, combine d'une certaine manière l'emploi de l'acide nitrique et de l'acide sulfurique. Il s'arrange pour agir, pendant toute la durée de l'attaque, en milieu très oxydant; les chlorures sont alors chassés sans entraîner sensiblement d'arsenic et celui-ci se retrouve, à la fin, sous la forme d'acide arsénique.

D'après ses dernières publications, « on verse sur 100^g de tissus frais, suivant le cas, de 30^g à 60^g d'acide nitrique pur $(NO^3)^2 . 3\,H^2O$; on additionne de 1^g d'acide sulfurique, et l'on chauffe le tout, dans une capsule de porcelaine, jusqu'à liquéfaction complète, puis épaississement; on retire du feu et l'on ajoute alors seulement 8^g à 10^g d'acide sulfurique pur. On chauffe de nouveau assez fortement, puis retirant du feu,

l'on verse sur la matière en train de se détruire de l'acide nitrique par faibles quantités à la fois, jusqu'à ce que, chauffant jusqu'au point ou l'acide sulfurique émet d'épaisses vapeurs, il ne reste plus dans la capsule qu'un liquide brun à peu près incarbonisable à la température où l'acide sulfurique commence à bouillir. Dans certains cas (résidus urinaires, extraits de vin, et surtout glande thyroïde), la destruction est difficile et les additions successives d'acide nitrique doivent être plusieurs fois répétées. Arrivé au point où l'acide nitrique n'oxyde presque plus, on chasse celui-ci une dernière fois à chaud, on laisse refroidir, on ajoute encore un peu d'acide sulfurique, et, en agitant, on verse la petite quantité de liqueur brune résiduelle dans 600^{cm3} à 700^{cm3} d'eau distillée. On lave ensuite la capsule, après refroidissement et l'on réunit le tout. Il tombe au fond du récipient une matière humique, très divisée, à laquelle surnage une liqueur plus ou moins foncée (9). »

C'est dans cette liqueur, une fois filtrée, qu'on recherche le métalloïde.

L'emploi ainsi combiné de l'acide sulfurique et de l'acide nitrique réalise une excellente destruction des matières organiques, mais il consomme une quantité assez considérable d'un réactif qui, je l'ai déjà expliqué, peut avoir une influence prépondérante sur le résultat de l'expérience.

Je suppose qu'on ait pris de l'acide nitrique aussi pur qu'on puisse l'obtenir par les procédés antérieurement connus, c'est-à-dire de l'acide contenant environ $\frac{1}{3\,000\,000}$ d'arsenic : chaque portion de 30^g contiendra $\frac{1}{100}$ de milligramme d'arsenic, soit la moitié de la plus petite dose reconnaissable par la méthode de la Commission de l'Académie, le double de celle qu'on peut déceler en suivant les indications de M. A. Gautier, la dose qui me suffirait à produire aisément une vingtaine d'anneaux.

Pendant l'attaque de la matière organique, une partie de cet arsenic se volatilise avec les vapeurs d'acide nitrique en excès; mais une autre partie, retenue surtout par l'acide sulfurique, reste dans le résidu.

Il est difficile d'évaluer exactement la grandeur de cette seconde partie, car elle dépend à la fois de la proportion d'acide nitrique qui disparaît par réduction, de la nature des matières organiques, de la teneur en chlorures que celles-ci renferment, de la quantité d'acide sulfurique, etc., mais elle est certainement assez élevée.

On en a une idée quand on purifie l'acide nitrique d'après ma méthode, c'est-à-dire en le distillant à plusieurs reprises avec 10 pour 100 d'acide sulfurique pur; l'acide sulfurique retient chaque fois près des $\frac{5}{6}$ de l'arsenic présent.

Cette proportion n'est sans doute pas toujours atteinte dans les attaques de matières organiques, mais elle doit l'être quelquefois. En tout cas, si l'on multiplie les doses d'acide nitrique, comme cela devient nécessaire avec les organes difficiles à détruire, on peut arriver facilement à introduire assez d'arsenic pour que ce métalloïde devienne décelable par la méthode de Marsh, même sans les modifications que j'ai proposées à l'occasion de mes recherches.

La nécessité s'impose donc, pour avoir des résultats précis, d'employer un acide nitrique excessivement pur, tel que la quantité d'arsenic qu'il apporte soit notablement inférieure à la limite de sensibilité de la méthode de Marsh.

Je suis parvenu, non seulement à abaisser la teneur arsenicale de l'acide nitrique jusqu'au point où elle devient pour ainsi dire négligeable, mais à augmenter encore les garanties en diminuant la quantité de cet acide qui était nécessaire pour la destruction des matières organiques. Je me suis basé, pour cela, sur l'action puissante de l'acide sulfurique, réactif qu'il est facile d'obtenir exempt d'arsenic.

Ce procédé de destruction ressemble beaucoup à celui de M. Armand Gautier, auquel il emprunte ses principes. Il en diffère principalement par l'addition, dès le début de l'attaque, d'une plus grande proportion d'acide sulfurique. La désagrégation des tissus, qui est surtout de nature hydrolytique, se produit alors plus aisément et l'on économise beaucoup d'acide nitrique.

En outre, comme les dérivés nitrés qui prennent naissance sont peu stables dans l'acide sulfurique concentré et chaud, ils se décomposent au fur et à mesure de l'évaporation, et l'espèce de déflagration qui avait lieu quelquefois ne se produit plus.

Pour conduire l'attaque, on prépare d'abord un mélange de neuf parties d'acide nitrique avec une d'acide sulfurique pur. Ce mélange, ajouté au cours de l'opération sur la masse en partie desséchée et carbonisée la désagrège beaucoup mieux que l'acide nitrique seul et, n'étant pas aussi volatil, il permet de laver plus facilement les parois chaudes de la capsule. A la fin, la quantité totale des acides mis en jeu est comprise entre une fois et demi et trois fois le poids de la matière organique, supposée sèche.

Certains animaux ou organes, riches en composés calcaires, exigent toutefois un supplément d'acide sulfurique, destiné à la transformation du calcium en sulfate.

Si l'on prend, par exemple, comme cela est le cas le plus fréquent, des tissus mous (thyroïde d'Orque, muscle de Grondin, testicule de Squale, Holothurie, etc.), ou même des plumes de Pétrel, de la corne de Mouton ou de l'écaille de Tortue, on procède la manière suivante :

Le tissu, frais ou au sortir de l'alcool, est d'abord divisé en petits fragments à l'aide de ciseaux. S'il y a lieu, le liquide alcoolique dans lequel il était conservé est évaporé à sec au bain-marie; on opère alors cette évaporation dans la capsule où se fera l'attaque. La corne et l'écaille doivent être réduits en poudre fine dans un mortier, le mieux après dessication à l'étuve. L'échantillon ainsi préparé est pesé; on évalue, soit par un calcul approximatif, soit par chauffage à l'étuve d'une portion aliquote, ce qu'il renferme de matière sèche, et on le met dans une capsule de porcelaine spacieuse avec une quantité du mélange acide correspondant à 1 ou 2 fois le poids de la matière sèche. On ajoute à ce mélange encore un peu d'acide sulfurique, à peu près 20 à 25 °/₀ du poids sec, et on chauffe doucement. On peut commencer ce chauffage au bain-marie, surtout si le tissu est imbibé d'alcool, mais il faut le continuer sur un fourneau à gaz ou à pétrole, recouvert d'une toile métallique et d'un large disque de métal, perforé au centre. On peut ainsi pousser le feu à la fin de l'opération, sans courir le risque de surchauffer les bords de la capsule.

Pendant le chauffage, il faut agiter continuellement le mélange en réaction qui

doit rester très homogène. La dissolution se fait rapidement; on obtient une masse visqueuse, jaune clair d'abord, puis jaune foncé, plus fluide, se caramélisant enfin.

En opérant comme je l'indique, c'est-à-dire avec un mélange assez riche en acide sulfurique, la décomposition de la matière organique se poursuit régulièrement du commencement à la fin. On augmente un peu le feu quand le mélange brunit, et l'on chauffe, toujours en agitant, jusqu'à ce que la masse soit tout à fait noire et homogène[1]. En général, on n'obtient pas le résultat indiqué du premier coup; il faut rajouter encore du mélange acide et évaporer de nouveau. Quand on a un peu d'habitude, on voit très bien, au cours de l'opération, qu'on n'arrivera pas au but sans une nouvelle addition de réactifs; on verse alors le mélange acide avec une pipette, peu à peu, tout en remuant et en poursuivant l'évaporation. Lorsque l'attaque est terminée, la masse restant dans la capsule ressemble à du cirage[2]; si on en met un peu dans l'eau froide, elle se divise facilement en fines particules et le liquide se colore à peine en jaune.

On éteint le feu, on projette goutte à goutte de l'eau froide sur le résidu noir, puis, à la fin, une plus forte quantité d'eau: 1/4 de litre, par exemple. On délaye bien la masse et, après refroidissement complet, on sépare les produits humiques insolubles par filtration. Le liquide, réuni aux eaux de lavage, est alors additionné de quelques centimètres cubes de solution d'acide sulfureux (pour réduire l'acide arsénique à l'état d'acide arsénieux) et concentré jusqu'à environ quatre ou cinq fois le poids de la matière organique sèche.

Avec les Eponges, les Astéries, les écailles de Poisson, il faut augmenter, au début, la dose additionnelle d'acide sulfurique pur, à cause de leur richesse en combinaisons calcaires.

Les Oursins ont été traités avec leurs carapaces de carbonate de calcium; on a donc modifié un peu le début de l'opération, pour ne pas être gêné à la fin par une forte proportion de nitrate, qui aurait provoqué l'inflammation du mélange.

Cent grammes d'Oursins (sortant de l'alcool) et représentant 26^{gr} 8 de matière sèche, ont été placés dans une capsule avec l'extrait sec, soit 3^{gr} 6, provenant des 110 grammes de liquide dans lequel ils baignaient. On a ajouté peu à peu le mélange acide en opérant au bain-marie, jusqu'à ce qu'une nouvelle addition ne produisît plus d'effervescence sensible. A ce moment, la craie étant saturée, on avait employé 36 grammes de mélange, soit 32^{gr} 4, (les 9/10) d'acide azotique. Ces 32^{gr} 4 correspondent à peu près à 25 grammes d'acide sulfurique pur; on en a ajouté 30 : tout le calcium qui se trouvait sous forme de nitrate s'est transformé en sulfate, de sorte que le contenu de la capsule renfermait finalement, à l'état de liberté, 32^{gr} 4 d'acide nitrique et $5 + 3{,}6 = 8^{gr}$ 6 d'acide sulfurique. L'attaque a été terminée comme les précédentes.

[1] Avec l'Eponge, les écailles de Poissons, elle était sèche et pulvérulente.

[2] Sauf avec les substances indiquées plus haut. La plus haute température qu'on doive atteindre est celle à laquelle commencent à se dégager quelques vapeurs blanches (vapeurs d'acides gras principalement).

Après concentration, le liquide provenant de l'épuisement des matières humiques présente à peu près la couleur du vin de Malaga. On y fait passer un courant d'hydrogène sulfuré, très lentement, pendant plusieurs heures. Le matras dans lequel se trouve le liquide est alors bouché et abandonné jusqu'au lendemain, pour que le précipité se rassemble bien et devienne aisément filtrable.

On recueille ce précipité sur un petit filtre Berzélius et on le lave avec de l'eau saturée d'hydrogène sulfuré, légèrement acidulée. Il renferme l'arsenic à l'état de sulfure, avec un peu de soufre et des matières organiques. On l'arrose goutte à goutte, avec de l'ammoniaque étendue et tiède, en se servant d'une pipette; il se dissout presque intégralement et donne une solution foncée qu'on reçoit dans une petite capsule de porcelaine. On évapore à sec, puis on attaque le résidu par un peu du mélange acide (1^{cm3} ou 2^{cm3}), et deux ou trois gouttes d'acide sulfurique, comme s'il s'agissait de la matière organique primitive. En reprenant par l'eau, il se sépare encore des flocons de produits humiques; on filtre, on lave et on évapore de nouveau, d'abord au bain-marie, puis sur une petite flamme, jusqu'à ce qu'il commence à se produire des vapeurs blanches. On enlève aussitôt la capsule du feu et on y verse 1^{cm3} d'acide nitrique fumant. On recommence deux ou trois fois s'il le faut, l'attaque à l'acide fumant, et l'on obtient comme résidu final une solution sulfurique incolore ou presque incolore, qu'on n'a plus qu'à étendre d'un peu d'eau et à verser dans l'appareil de Marsh[1].

Il est essentiel de pousser aussi loin la destruction des matières organiques, surtout quand on cherche l'arsenic dans les tissus, comme la corne ou les poils, riches en kératine. Dans ce cas, en effet, l'arsenic est suivi d'une manière tenace par certaines combinaisons sulfurées très résistantes qui, introduites dans l'appareil de Marsh, donnent naissance à de l'hydrogène sulfuré. L'anneau est alors souillé par du soufre; peut-être même, une partie de l'arsenic se précipite-t-elle, à l'état de sulfure, dans le flacon à hydrogène.

La masse de matières humiques qui résulte de l'attaque, retient, sans doute par affinité capillaire, une petite proportion d'arsenic. On peut s'en rendre compte en la traitant à nouveau, avec les mêmes poids d'acides. On obtient encore des traces du métalloïde.

Ces traces sont dues, pour la grande part du moins, à la matière organique, et non, comme il est utile de le vérifier, seulement à l'impureté des réactifs.

Quand on fait une seconde et une troisième attaque, en prenant toujours les quantités primitives d'acides, le poids de matières humiques diminue très peu chaque fois, autrement dit, la cause de rétention de l'arsenic reste à peu près la même d'une attaque à l'autre.

[1] Si l'on soupçonnait la formation d'un peu de sulfate acide de nitrosyle dans la solution sulfurique, on ajouterait un cristal de sulfate d'ammonium pur avant de terminer la dernière évaporation. On sait, d'après Pelouze (**15**), que le sulfate d'ammonium, chauffé avec l'acide sulfurique concentré, réduit facilement tous les composés oxygénés de l'azote.

Si donc il n'y a pas trace du métalloïde dans l'organe soumis à l'analyse, on peut multiplier le nombre des attaques, on ne trouve pas d'arsenic, ou bien avec des réactifs insuffisamment purifiés, on en trouve une quantité constante. Cette quantité mesure alors le degré de souillure des réactifs ou plus exactement l'erreur qu'ils peuvent apporter dans l'expérience.

Si au contraire, l'organe analysé est arsenical, on obtient des anneaux de plus en plus faibles, jusqu'au moment où, tout le métalloïde de la matière organique étant passé en dissolution, les nouvelles attaques ne donnent plus d'anneau, ou bien, dans l'hypothèse des réactifs impurs, des anneaux de grandeur constante.

Dans les expériences que je rapporte plus loin, les réactifs étaient très purs, et je n'ai obtenu plusieurs anneaux qu'avec des organes riches en arsenic. Avec les organes pauvres, la quantité d'arsenic restant dans les matières humiques était inférieure à la limite de sensibilité de la méthode de Marsh. Il y avait en outre une différence considérable entre les anneaux, principalement entre le premier et le second, preuve que l'arsenic était bien apporté par les organes examinés et non par les réactifs.

Je recommande beaucoup cette méthode des attaques successives, car elle fournit le meilleur moyen de vérifier les réactifs et de contrôler les résultats.

Le choix des matériaux d'études

Dans quelles conditions doit-on maintenant appliquer les méthodes qui viennent d'être décrites pour élucider le problème de l'arsenic normal? Peut-on s'adresser à n'importe quel tissu ou organisme vivant? N'y a-t-il pas des causes d'erreurs, indépendantes des méthodes, qui pourraient enlever toute valeur aux conclusions tirées de l'analyse chimique?

Ce sont là des questions très importantes, mais dont, semble-t-il, on n'avait pas tenu compte jusqu'ici.

Toutes les expériences, en effet, ont été effectuées sur l'homme et les animaux domestiques, c'est-à-dire sur des êtres soumis, par suite du développement de l'industrie, à des causes importantes de contamination arsenicale.

Non seulement les énormes quantités de houille qui sont consommées par les usines, les chemins de fer, etc., déversent dans l'atmosphère de certaines régions des proportions notables d'acide arsénieux, mais tous les produits qui, de près ou de loin, ont eu contact avec l'acide sulfurique, dérivé lui-même des pyrites, contiennent une certaine quantité du métalloïde. C'est ainsi que les superphosphates, le sulfate d'ammoniaque, employés par tonnes comme engrais, ont introduit l'arsenic dans presque tous les sols cultivés. De là, le métalloïde à dû passer dans les plantes [1] qui servent de

[1] Les expériences de Trinchinetti (**17**), de P. P. Dehérain (**6**) etc., ont prouvé en effet que les racines peuvent absorber tous les éléments solubles qui sont en contact avec elles.

nourriture aux animaux et à l'homme. L'acide arsénieux servait déjà vers 1840, à chauler le blé. Les drèches, qui résultent de la saccharification de diverses céréales en présence d'acide sulfurique, sont utilisées pour la nourriture des bestiaux. Le malt, desséché dans les gaz de combustion de la houille, a quelquefois introduit assez d'arsenic dans la bière pour qu'on explique ainsi certains accidents. Le glucose, obtenu par l'action de l'acide sulfurique sur l'amidon, rend compte de la présence de l'arsenic dans un grand nombre de produits alimentaires : bières, confitures, liqueurs, etc. Sans parler d'une foule d'autres substances : matières colorantes, produits chimiques ou de toilette, médicaments, etc., qui renferment aussi de l'arsenic.

Il ne semble pas étonnant, dans ces conditions, de rencontrer des traces minimes d'arsenic dans le corps de l'homme et des animaux qui habitent les régions soumises au régime industriel. Mais une telle constatation ne prouve pas qu'il y ait toujours eu de l'arsenic dans l'organisme, que la présence de ce métalloïde chez l'homme et les animaux soit véritablement normale, par conséquent indépendante des temps et des lieux.

Pour trancher la question, soit dans un sens soit dans l'autre, il faut recourir à des organismes éloignés de toutes les causes de contamination arsenicales énumérées plus haut, il faut s'adresser à des êtres vivant, s'il est possible, dans un milieu de composition constante, que n'aient pu influencer ni l'apparition, ni le développement des industries humaines.

La preuve de l'arsenic normal

Il m'a été possible d'opérer dans ces conditions précises grâce au généreux accueil de S. A. S. le Prince de Monaco, lors de sa dernière croisière scientifique à bord du yacht *Princesse-Alice* (du 18 juillet au 17 septembre 1902).

Aidé par Son Altesse, qui n'a ménagé pour cela ni son temps ni ses peines, j'ai pu rassembler alors, et soumettre ensuite à l'analyse chimique, les organes d'une assez longue série d'animaux marins, capturés loin des côtes, quelquefois à une grande profondeur, dans l'Atlantique [1]. J'ai examiné aussi les plumes d'un oiseau de haute mer, le Pétrel, et les cornes d'un Mouton, élevé dans les pâturages du mont Pico, aux îles Açores.

Bien entendu, les plus grandes précautions ont été prises pour ne pas souiller les animaux. Les dissections ont été faites sur une table de bois et non, comme on en avait l'habitude à bord, sur des plateaux en zinc. Les Pétrels ont été tués au fusil, mais, pour éviter l'erreur que pouvait apporter la présence du plomb de chasse, toujours arsenical, on a rejeté le corps de ces oiseaux et utilisé seulement les plumes,

[1] Dans une zone comprise entre Gibraltar, les Açores et l'ouverture de la Manche (banc de la Petite-Sole). L'Orque, toutefois, a été harponné par le Prince en Méditerranée.

séparées avec soin aussitôt après la mort. Les Actinies, les Etoiles de mer, les Seiches et autres animaux provenant des fonds ont été lavés complètement à l'eau de mer, afin de détacher les dernières particules sableuses qui pouvaient y adhérer. Dans le cas des Etoiles de mer et des Oursins, plus difficiles à nettoyer à cause des nombreux tentacules et des pointes qui hérissent leur surface, on a prélevé un échantillon du fond sableux sur lequel ces deux espèces avaient été draguées, et on y a cherché l'arsenic en opérant comme s'il s'était agi des animaux eux-mêmes.

Cet échantillon de fond, desséché, pesait 38 grammes. Il était formé presque entièrement de squelettes calcaires de globigérines. Attaqué par 73 grammes d'acide nitrique et 65 grammes d'acide sulfurique, il n'a donné qu'une trace douteuse d'arsenic. Les quelques grains qui pouvaient rester après le corps des animaux ne peuvent donc être considérés comme une cause d'erreur.

Il aurait pu en être autrement si on avait eu affaire à certains fonds d'origine volcanique. C'est ainsi que 16 grammes de sable et de petits cailloux, ramenés d'une profondeur de 1187^{m}, près de l'île São Miguel, ont fourni un anneau arsenical d'environ 4 à 5 millièmes de milligramme. Les Actinies, pêchées sur ce fond, dont la nature volcanique était évidente, ont été fendues et nettoyées minutieusement, de manière à ne plus présenter trace de matières étrangères.

Remarquons en passant qu'il eût fallu un nettoyage vraiment grossier de ces Actinies pour y laisser un gramme et demi de sable ou petits cailloux correspondant à la plus petite quantité d'arsenic décelable par mon procédé de recherche. De sorte qu'on ne peut, ici non plus, faire valoir la présence de particules venant du fond dans le corps des animaux contre le résultat de l'analyse.

Les expériences d'isolement de l'arsenic que j'ai faites pendant la croisière ont surtout servi à m'orienter au milieu de mes recherches. Malgré une installation vraiment remarquable, on ne pouvait compter, en effet, travailler sur le navire comme dans un laboratoire ordinaire. Le climat chaud et humide, le mouvement du roulis, rendaient les manipulations très fatigantes, quelquefois même impossibles. Les opérations de pêche et de chasse, indispensables pour se procurer les matériaux d'études, causaient à leur tour de nouvelles interruptions. Enfin, les attaques de matières organiques étant effectuées sur le pont, il était impossible, malgré les dispositions prises, d'éviter tout à fait l'influence du vent; l'entraînement des gaz chauds et quelques extinctions portaient la durée d'une attaque à 2 ou 3 heures, pendant lesquelles il fallait toujours craindre l'introduction de poussières, notamment celles de la cheminée, dans le mélange en réaction. Pour ces diverses causes, on n'a exécuté, durant la croisière, qu'un nombre assez restreint d'expériences [1].

La suite des recherches a été effectuée au laboratoire de l'Institut Pasteur sur des échantillons conservés dans environ leur poids d'alcool à 96°. On possédait au

[1] Ces expériences ont toutes été reproduites au retour. L'identité des résultats obtenus montre qu'on peut très bien opérer en mer, dans les conditions où j'étais placé.

départ une provision de cet agent conservateur dont un litre avait permis de vérifier la pureté absolue au point de vue qui nous occupe. Au moment des analyses, on pesait à nouveau le liquide et la partie solide, et on opérait sur un mélange de portions aliquotes.

En raison de l'absence de gaz d'éclairage dans le navire, l'appareil décrit plus haut pour la recherche de l'arsenic était légèrement modifié. Comme on le voit par

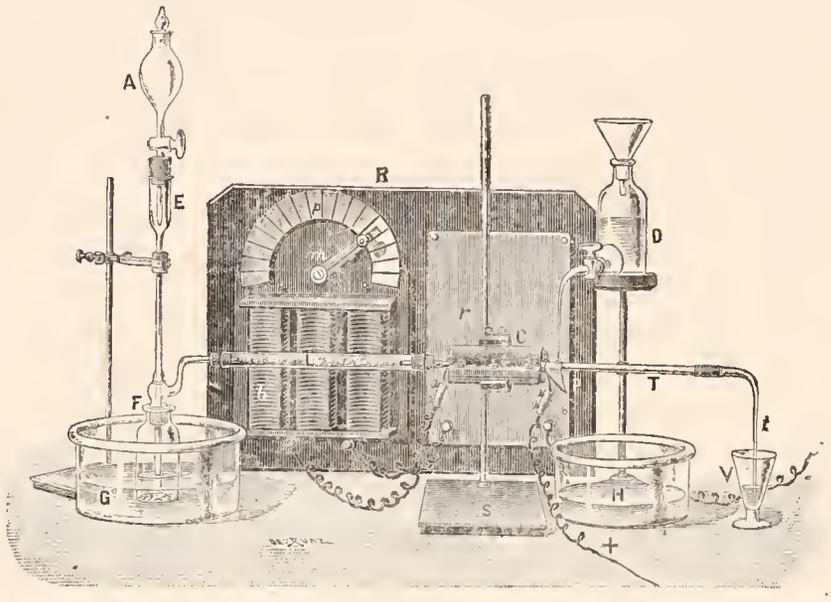

Fig. 5.

la figure 5, une gaîne C, chauffée électriquement, remplaçait la petite rampe à gaz de la figure 4. Le courant était réglé à l'aide d'un rhéostat représenté en R.

Les animaux sur lesquels ont porté les recherches ont été les suivants :

Éponge *(Desmacidon fruticosa* [Montagu] Bowerbank)[1]. Les individus de cette espèce, du type corné, viennent du banc de la Petite-Sole (11° 38' long. W., et 48° 21' lat. N.), à 152^{m} de profondeur. On les a lavés complètement à l'eau de mer, passés dans l'eau douce et fortement pressés à la main. A cet état, ils pesaient 1365 grammes et renfermaient 8,90 °/₀ de matière sèche.

Actinie *(Chitonactis Richardi* Marion). Deux individus pêchés à 1187^{m}, près de l'île de São Miguel. Poids : 105 grammes; matière sèche : 12,48 °/₀.

Etoile de mer *(Pedicellaster sexradiatus* Perrier)[2]. Nombreux individus ramenés de 1805^{m} de profondeur avec le chalut, au voisinage de l'île Terceira. Matière sèche : 24,16 °/₀.

Oursin *(Strongylocentrotus dröbachiensis* Agassiz). Proviennent aussi en grand

[1] Détermination de M. Topsent.
[2] Presque toutes ces espèces ont été déterminées par M. le Dr Jules Richard.

nombre de la même station que les Etoiles de mer. La matière sèche n'a pas été dosée par rapport aux animaux frais.

Holothurie (*Stichopus regalis* Cuvier) du banc de la Petite-Sole. Matière sèche : 4,62 °/₀.

Anatifes (*Lepas anatifera* Linné). Développés sur une pièce de bois équarrie, flottant au voisinage du banc Chauser (43° lat. N. et 31° 5 long. W.). On a utilisé seulement les parties molles (pieds, cirrhes, etc.), dans lesquelles on a dosé 10,99 °/₀ de matière sèche.

Seiches (*Sepia elegans* d'Orb.). Ramenées dans le chalut en même temps que les Holothuries. Elles étaient de petite taille. 14 individus, lavés et égouttés, pesaient 813 grammes. On y a dosé 35 grammes d'os et 134^{gr} 6 de matière sèche.

Roussettes (*Scyllium canicula* Cuvier). Pêchées au banc de la Petite-Sole. Après un lavage soigné, on a enlevé les peaux qui, seules, ont été conservées dans l'alcool et analysées. Elles contenaient 50,4 °/₀ de matière sèche.

Germons (*Thunnus alalonga* Gmelin). Pris à la ligne de traîne, en plein Atlantique. On a prélevé 135 grammes de peau sur deux poissons de 4 à 5 kilogrammes chacun.

Serrans (*Serranus atricauda* Günther). Pêchés sur le banc Gorringe On avait mis à part des écailles, de la peau entière et des muscles. Matière sèche dans la peau : 44,4 °/₀; dans les muscles : 34,2 °/₀.

Grondins (*Trigla pini* Bloch). Pris au chalut sur le banc de la Petite-Sole. On a séparé la peau de 30 individus et conservé aussi une certaine quantité de muscles. Matière sèche dans la peau : 42,4 °/₀; dans les muscles : 22,6.

Squale (*Centroscymnus cœlolepis* Boc.). Pris au palancre, à 1095^{m} de profondeur, au nord de l'île São Jorge. Les testicules frais pesaient 105 grammes; matière sèche : 12,5 °/₀.

Tortue de mer (*Thalassochelys caretta* Linné). Capturée au large des Açores. La carapace a été mise à part. En s'aidant de la scie, de la pince et du pilon, on a séparé les écailles du squelette et on les a réduites en poudre pour l'analyse.

Pétrels (*Procellaria pelagica* Linné). Neuf de ces oiseaux tirés en haute mer ont fourni 34 grammes de plumes, y compris les becs et les ongles.

Orque (*Orca gladiator* Linné). Capturé en Méditerranée, près de Gibraltar. Les glandes thyroïdes fraîches pesaient 195 grammes. On n'a fait qu'une seule expérience sur 50 grammes. La peau a été examinée au laboratoire, sur des échantillons conservés dans l'alcool. On avait mis à part une partie de l'épiderme.

Mouton (*Ovis aries* Linné). Provient des pâturages du mont Pico, à 1500^{m} d'altitude. Il s'était tué en tombant dans une crevasse. On a étudié seulement les cornes, séparées de leur partie osseuse et pulvérisées au mortier.

Dans le tableau ci-dessous, qui résume tous les résultats, on a indiqué, afin de rendre plus facile une appréciation exacte, 1° le nom des animaux et des organes examinés; 2° le poids de matière sèche soumis à l'analyse; 3° la quantité de chacun

des acides employés dans l'attaque; 4° enfin, l'évaluation, en millièmes de milligramme, de l'anneau arsenical qui a été obtenu [1].

Noms des animaux	Noms des organes	Matière sèche	Acide nitrique	Acide sulfurique	Arsenic
Eponge (*Desmacidon fruticosa* Montagu)....	entière	36,7	67,5	17,5	5,0
Actinie (*Chitonactis Richardi* Marion).....	entière	13,1	18,0	7,0	2,0
Etoile de mer (*Pedicellaster sexradiatus* Perrier).....	entière	29,0	40,5	19,5	2,0
Oursin (*Strongylocentrotus dröbachiensis* Agassiz).....	entier	30,4	32,5	33,5	4,5
Holothurie (*Stichopus regalis* Cuv.).....	entière	81,8	72,0	15,0	3,0
Anatife (*Lepas anatifera* L.).....	corps moins les valves	31,5	147,0	26,0	2,0
Seiche (*Sepia elegans* d'Orb.).....	corps moins l'os	40,8	31,0	14,0	2,0
Squale (*Centroscymnus cœlolepis* Boc.)	testicules	12,5	16,0	7,0	1,5
Roussette (*Scyllium canicula* Cuv.)	peau	22,7	45,0	15,0	3,5 à 4,0
Germon (*Thunnus alalonga* Gm.).....	peau	26,0	180,0	40,0	3,5 à 5,6
Grondin (*Trigla pini* Bloch).....	peau	32,7	36,0	14,0	5,0
	muscles	30,1	71,0	14,0	1,5
Serran (*Serranus atricauda* Günt.).....	peau	22,2	45,0	12,0	1,0
	muscles	17,1	33,0	8,0	1,0
	écailles	environ 20	»	»	1,0
Tortue (*Thalassochelys caretta* L.).....	écailles	20	40,5	9,5	3,5
Pétrel (*Procellaria pelagica* L.).....	plumes	34,0	43,0	15,0	2,5
Orque (*Orca gladiator* L.).....	glande thyroïde	50 (à l'état frais)	45,0	10,0	2,5
	peau	40,0	86,5	19,5	3,5
Mouton (*Ovis aries* L.).....	corne	20,0	50,5	10,5	4,0

Si l'on considère, après l'examen de ce tableau, que 300 grammes d'acide nitrique étaient nécessaires pour donner, avec 30 grammes d'acide sulfurique et 25 grammes de zinc, un anneau arsenical de $\frac{1}{2}$ millième de milligramme, c'est-à-dire pour atteindre la limite de sensibilité de la méthode de recherche, on voit que dans les cas les moins favorables, la quantité d'arsenic obtenue était encore notablement au-dessus de celle qui aurait pu être apportée par l'ensemble des réactifs.

Avec la corne de Mouton, les peaux d'Orque et de Poisson, l'écaille de Tortue, l'Oursin, l'Eponge, ces quantités sont même tellement au-dessus de toutes les erreurs d'expériences qu'il ne peut plus subsister aucun doute concernant l'existence de l'arsenic chez les animaux considérés.

Le Mouton du Pico n'a pu trouver son arsenic que dans l'herbe dont il se nour-

[1] Par comparaison avec une série d'anneaux types de 1/2, 1, 2,...., millièmes de milligramme, préparée en versant une solution titrée d'arséniate de sodium directement dans l'appareil de Marsh.

Jusqu'à 5 millièmes, il est très facile d'apprécier la valeur des anneaux à 1/2 millième près, parce qu'il y a une grande différence quand on passe de l'un à l'autre. Au-dessus, il vaut mieux faire un nouvel essai avec une quantité moindre de matière, sinon l'appréciation n'est plus possible qu'à 1/2 centième de milligramme environ pour les cinq premiers centièmes, à 1/2 dixième environ pour les cinq premiers Dixièmes. A partir de ces derniers chiffres on peut déjà peser les anneaux.

Ici on n'a évalué que l'anneau fourni par la première attaque.

rissait, à une altitude de 1500^{m}, sur les flancs d'un volcan éteint, parfaitement isolé au point de vue des contaminations industrielles. Sous ce rapport, il présente presque la même garantie que le Phoque du Spitzberg dans le corps duquel j'ai antérieurement reconnu la présence de l'arsenic (1). Quant au Pétrel et aux animaux marins : Cétacé, Reptile, Poissons, Cirrhipède, Mollusques, etc., ils ont nécessairement puisé leur arsenic, d'une manière directe ou indirecte, dans les eaux de l'Océan, c'est-à-dire dans un milieu dont la composition chimique ne doit subir, à cause de sa masse formidable, que des modifications insensibles à travers les siècles.

L'existence de l'arsenic, établie sans exception dans tous les organes et chez tous les animaux examinés, depuis les spongiaires jusqu'aux vertébrés supérieurs, apparaît dès lors comme tout à fait générale, indépendante à la fois des temps et des lieux, des espèces et des tissus.

On est donc fondé à croire, en se plaçant au point de vue physiologique, au rôle essentiel de l'arsenic chez les animaux et les plantes, et à poursuivre l'étude de toutes les conséquences qui peuvent se tirer de cette importante proposition; on peut dire, en restant sur le terrain des faits démontrés, que l'arsenic est un élément de la cellule vivante aussi fréquent que le carbone, l'azote, le soufre et le phosphore, et admettre comme résolu, au point de vue chimique, le problème de l'arsenic normal de l'organisme.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. Bertrand (G.), *Sur la recherche et sur l'existence de l'arsenic dans l'organisme*, Ann. de l'Institut Pasteur, vol. 16, p. 553-556. Paris 1902.

2. Bertrand (G.), *Nouvelles recherches sur l'arsenic de l'organisme. Présence de ce métalloïde dans la série animale*, Ibid., vol. 17, p. 1-10. Paris 1903.

3. Berzélius, *Jahresbericht*. 1837.

4. Cerny, *Ueber das Vorkommen von Arsen im thierischen Organismus*, Zeitschrift für physiologische Chemie, vol. 34, p. 408-416. Strassburg 1903.

5. Danger et Flandin, *in* Thénard, etc. (**16**), Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, vol. 12, p. 1089. Paris 1841.

6. Dehérain, (P.), *Sur l'assimilation des substances minérales par les plantes*, Annales agronomiques, vol. 4, p. 321. Paris 1878.

7. Filhol, *Etudes sur les procédés de carbonisation généralement employés par les experts*, Journal de Pharmacie et de Chimie, [III], vol. 14, p. 404-409. Paris 1848.

8. Gautier (A.), *Sur la recherche et le dosage de l'arsenic dans les matières animales*, Annales de Chimie et de Physique, [V], vol. 8, p. 384-410. Paris 1876.

9. Gautier (A.), *Recherche et dosage de très petites quantités d'arsenic dans les organes*, Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, vol. 129, p. 936-938. Paris 1899.

10. Gautier (A.), *Localisation, élimination et origine de l'arsenic chez les animaux*, Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, vol. 130, p. 286. Paris 1900.

11. Hödlmoser, *Enthalten gewisse Organe des Körpers physiologischer Weise Arsen?*, Zeitschrift für physiologische Chemie, vol. 33, p. 329-344. Strassburg 1901.

12. Liebig (J.), *Ueber Marsh's Apparat*, Annalen des Chemie und Pharmacie, vol. 23, p. 207. Leipzig 1837.

13. Marsh (Y.), *Account of a method of separating small quantities of arsenic from substances with which it may be mixed*, Edinburgh new philosophic. Journal, vol. 21, 1836. Voir aussi : Journal de Pharmacie et de Chimie, vol. 23, p. 553-570. Paris 1837.

14. Orfila, *Recherches sur l'empoisonnement par l'acide arsénieux*, (Recueillies par Beaufort) p. 95-99. Paris 1842.

15. Pelouze, *Observations sur la décomposition de l'ammoniaque par les combinaisons de l'azote avec l'oxygène*, Journal de Pharmacie et de Chimie, [III], vol. 2, p. 47-53. Paris 1841.

16. Thénard, Dumas, Boussingault, Regnault, *Rapport sur plusieurs Mémoires concernant l'emploi du procédé de Marsh, dans les recherches de médecine légale*, Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, vol. 12, p. 1076-1109. Paris 1841.

17. Trinchinetti, *Sulla facolta assorbente delle radice de vegetabili*. Milan 1863.

18. Ziemke, Apotheker Zeitung, vol. 17. Berlin 1902.

[illegible]

La présente publication est en dépôt chez MM. Friedländer, 11, Carlstrasse N. W. à Berlin

RÉSULTATS

DES

CAMPAGNES SCIENTIFIQUES

ACCOMPLIES SUR SON YACHT

PAR

ALBERT Ier

PRINCE SOUVERAIN DE MONACO

PUBLIÉS SOUS SA DIRECTION

AVEC LE CONCOURS DE

M. JULES RICHARD

Docteur ès-sciences, chargé des Travaux zoologiques à bord

FASCICULE XXIII

Bryozoaires provenant des campagnes de l'HIRONDELLE

(1886-1888)

Par JULES JULLIEN et LOUIS CALVET

AVEC DIX-HUIT PLANCHES

IMPRIMERIE DE MONACO

1903

RÉSULTATS

DES

CAMPAGNES SCIENTIFIQUES

ACCOMPLIES SUR SON YACHT

PAR

ALBERT Ier

PRINCE SOUVERAIN DE MONACO

PUBLIÉES SOUS SA DIRECTION

AVEC LE CONCOURS DE

M. JULES RICHARD

Docteur ès-sciences, chargé des Travaux zoologiques à bord

FASCICULE XXIII

Bryozoaires provenant des campagnes de l'HIRONDELLE

(1886-1888)

PAR JEAN DE GUERNE et JULES JULIN

IMPRIMERIE DE MONACO

1903

La présente publication est en dépôt chez MM. Friedländer, 11, Carlstrasse N. W. à Berlin

RÉSULTATS

DES

CAMPAGNES SCIENTIFIQUES

ACCOMPLIES SUR SON YACHT

PAR

ALBERT Ier

PRINCE SOUVERAIN DE MONACO

PUBLIÉS SOUS SA DIRECTION

AVEC LE CONCOURS DE

M. JULES RICHARD

Docteur ès-sciences, chargé des Travaux zoologiques à bord

FASCICULE XXIV

Recherches sur l'existence normale de l'arsenic dans l'organisme

Par GABRIEL BERTRAND

AVEC CINQ FIGURES DANS LE TEXTE

IMPRIMERIE DE MONACO

1903

RÉSULTATS

DES

CAMPAGNES SCIENTIFIQUES

ACCOMPLIES SUR SON YACHT

PAR

ALBERT Ier

PRINCE SOUVERAIN DE MONACO

PUBLIÉS SOUS SA DIRECTION

AVEC LE CONCOURS DE

M. JULES RICHARD

Docteur ès-sciences, chargé des travaux zoologiques à bord

FASCICULE XXIV

Recherches sur l'existence normale de l'arsenic dans l'organisme

Par Gabriel BERTRAND

IMPRIMERIE DE MONACO

1903

La présente publication est en dépôt chez MM. Friedländer, 11, Carlstrasse N. W. à Berlin